EUROPEAN PATENT OFFICE

Patent Abstracts of Japan

PUBLICATION NUMBER : 08035155
PUBLICATION DATE : 06-02-96

APPLICATION DATE : 24-04-95
APPLICATION NUMBER : 07098542

APPLICANT : SONY CORP;

INVENTOR : URYU MASARU;

INT.CL. : D04H 1/42 A61L 15/00 C08J 5/04 C08L 1/00 D01F 2/00 H01B 3/48

TITLE : MATERIAL FOR REINFORCING MICROORGANISM-IMMOBILIZING CARRIER

ABSTRACT : PURPOSE: To obtain the reinforcing material used for the microorganism- immobilizing carrier and comprising the bacterium cellulose of ribbon-like microfibrils and added to a carrier for immobilizing microorganisms to impart durability against stress destruction and deformation and a cell leakage- preventing property on usage to the carrier.

CONSTITUTION: A microorganism producing bacterium cellulose, such as Acetobacter aceti subspecies xylinum ATCC 10821, is cultured to form a gel-like membrane containing a bacterium cellulosic polysaccharide. The membrane is disintegrated and filtered with a pulp-disintegrating machine to obtain the paste of the bacterium cellulose comprising ribbon-like microfibrils. A gelatin used as the carrier of a microorganism is mixed with the above-described disintegration product, homogeneously dispersed and mixed with the microorganism, further mixed with transglutaminase, and subsequently subjected to the gelation of the gelatin to obtain the microorganism-immobilized gelatin gel reinforced with the bacterium cellulose.

COPYRIGHT: (C)1996,JPO

BNSDOCID: <JP_____408035155A_AJ_>

(19)日本国特許庁（ＪＰ）　(12) **公開特許公報（Ａ）**　(11)特許出願公開番号

特開平8－35155

(43)公開日　平成８年(1996)２月６日

(51)Int.Cl.[6]	識別記号	庁内整理番号	ＦＩ	技術表示箇所
Ｄ０４Ｈ　1/42			Ｆ	
Ａ６１Ｌ　15/00				
Ｃ０８Ｊ　5/04				
Ｃ０８Ｌ　1/00	ＬＡＳ			
Ｄ０１Ｆ　2/00			Ｚ	

審査請求　有　　発明の数１　ＯＬ　（全 18 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願平7－98542
(62)分割の表示　特願昭61－85021の分割
(22)出願日　昭和61年(1986)４月15日

(71)出願人　000001144
工業技術院長
東京都千代田区霞が関１丁目３番１号
(71)出願人　000000066
味の素株式会社
東京都中央区京橋１丁目15番１号
(71)出願人　000002185
ソニー株式会社
東京都品川区北品川６丁目７番35号
(72)発明者　井口　正俊
茨城県新治郡桜村並木３丁目654棟
(74)復代理人　弁理士　田中　政浩　（外２名）

最終頁に続く

(54)【発明の名称】　固定化担体補強材

(57)【要約】
【目的】　強度の向上、粘着の防止、菌体等の漏出防止機能を有する酵素、微生物等の固定化担体補強材を提供する。
【構成】　リボン状ミクロフィブリルよりなるバクテリアセルロースよりなる固定化担体補強材。

BNSDOCID: <JP_____408035155A_I_>

1

【特許請求の範囲】

【請求項１】　リボン状ミクロフィブリルよりなるバクテリアセルロースよりなる固定化担体補強材

【発明の詳細な説明】

【０００１】

【産業上の利用分野】本発明はバクテリアの産生する特定のセルロースを含有せしめることにより得られる引張り強さ、耐伸縮性にすぐれた高弾性及び高強度の成形材料に関するものである。

【０００２】この成形材料は紙その他各種シートとして利用しうるほか、糸状あるいは各種立体成形物として利用することもできる。

【０００３】

【従来の技術】従来、バクテリアの産生するセルロースとしては、アセトバクター・キシリナム（Ａｃｅｔｏｂａｃｔｅｒ　ｘｙｌｉｎｕｍ）ＡＴＣＣ　２３７６９が産生するシート状のものを医療用パッドに利用することが知られている（特開昭５９－１２０１５９号公報）。

【０００４】一方、従来の成形材料には種々のものが知られており、セルロースについても繊維を糸状、シート状、各種立体成形物に利用したもののほかセルロース誘導体を一旦溶解して加工したセロファン、セルロイドなどがある。また、合成高分子材料も各種開発されており、そのなかには分子鎖を一定方向に配列してその方向の力学強度を特に高めたものもある。

【０００５】

【発明が解決しようとする課題】従来の各種植物由来のセルロース及びセルロース誘導体の力学的強度はさほど大きくなく、例えばシート状のセルロイドやセロファンの弾性率はせいぜい２～３ＧＰａ程度であった。

【０００６】また、合成高分子材料のうち分子鎖が一定方向に配列したものには、一方向については金属や無機物と同等の弾性率を持つものもあるが、他の方向の弾性率が低いために高強度素材として用いるには自から用途が限定されていた。そのため、分子の配列に異方性がなく構造素材として強度的に秀れているものが求められているが、分子がランダムに配列しているような高分子物質では弾性率が低かった。合成高分子からなる成形材料で高性能のものとしては、ポリエステルフィルム、アラミドシート、ポリイミドフィルム等が知られているが、弾性率はたかだか４～７ＧＰａ程度であった。

【０００７】バクテリアの産生するセルロースを利用したものとしては前述の例があるが、その利用は医療用パッドに限られており、高力学強度分野における素材として利用価値が高いことについては全く知られていなかった。

【０００８】本発明の目的は、従来の成形材料を越えた、引張り強さ、耐伸縮性にすぐれた高弾性及び高強度の成形材料を提供することにある。

【０００９】本発明の別の目的は、この高力学強度に加

2

えて親水性にすぐれかつ毒性上問題のない成形材料を提供することにある。

【００１０】本発明のまたさらに別の目的は強度の向上、粘着の防止、菌体等の漏出防止機能を有する酵素、微生物等の固定化担体に用いうる高強度成形材料を提供することにある。

【００１１】本発明のさらに別の目的は、高力学強度に加えて導電性、磁性、高絶縁性、熱伝導性、耐候性、耐薬品性などを付与することにより各種利用分野においてすぐれた高力学強度素材を提供することにある。

【００１２】

【課題を解決するための手段】本発明者らはこれらの目的を達成するべく種々研究を行ない、微生物の産生するリボン状のミクロフィブリルよりなるセルロースが引張り強さ等の力学強度が極めて大きく、このバクテリアセルロースを含有せしめた素材を成形材料に用いることによって前記目的を達成しうることを見出し、この知見に基いて本発明を完成するに至った。

【００１３】すなわち、本発明は、リボン状ミクロフィブリルよりなるバクテリアセルロースを含有してなる高力学強度成形材料に関するものである。

【００１４】バクテリアセルロースは、第１図にその電子顕微鏡写真を示すように、幅１００～５００Å、厚さ１０～２００Å程度のリボン状ミクロフィブリルからなっている。一般にはゲルの形で得られ、その含水率は９５％（ｗ／ｖ）以上である。

【００１５】このセルロースはセルラーゼによって容易に分解され、グルコースを生成する。すなわち、本セルロースの０．１％（ｗ／ｖ）懸濁液にセルラーゼ（ＥＣ３，２，１，４）（天野製薬製）を０．５％（ｗ／ｖ）になるように溶かし、０．１Ｍ酢酸緩衝液中で３０℃で２４時間反応させた。その結果、本物質の一部が分解されることが観察され、上澄液をペーパークロマトグラフィーで展開したところグルコースのほかに少量のセロビオース、セロトリオース及びその他のセロオリゴ糖が検出された。このほかに少量のフラクトース、マンノース等が検出される場合もあった。

【００１６】すなわち、本発明のバクテリアセルロースはセルロース及びセルロースを主鎖としたヘテロ多糖を含むもの及びβ－１，３，β－１，２等のグルカンを含むものである。ヘテロ多糖の場合のセルロース以外の構成成分はマンノース、フラクトース、ガラクトース、キシロース、アラビノース、ラムノース、グルクロン酸等の六炭糖、五炭糖及び有機酸等である。なお、これ等の多糖が単一物質である場合もあるし、２種以上の多糖が水素結合等により混在していてもよい。

【００１７】バクテリアセルロースは上記のようなものであればいかなるものであっても使用可能である。

【００１８】このようなバクテリアセルロースを産生する微生物は特に限定されないが、アセトバクター・アセ

BNSDOCID: <JP_____408035155A__I_>

3

チ・サブスピーシス・キシリナム（Ａｃｅｔｏｂａｃｔｅｒａｃｅｔｉ ｓｕｂｓｐ・ｘｙｌｉｎｕｍ）ＡＴＣＣ１０８２１あるいは同パストウリアヌス（Ａ・ｐａｓｔｅｕｒｉａｎｕｓ）、同ランセンス（Ａ・ｒａｎｃｅｎｓ）、サルシナ・ベントリクリ（Ｓａｒｃｉｎａ ｖｅｎｔｒｉｃｕｌｉ）、バクテリウム・キシロイデス（Ｂａｃｔｅｒｉｕｍ ｘｙｌｏｉｄｅｓ）、シュードモナス属細菌、アグロバクテリウム属細菌等でバクテリアセルロースを産生するものを利用することができる。

【００１９】これらの微生物を培養してバクテリアセルロースを生成蓄積させる方法は細菌を培養する一般的方法に従えばよい。すなわち、炭素源、窒素源、無機塩類、その他必要に応じてアミノ酸、ビタミン等の有機微量栄養素を含有する通常の栄養培地に微生物を接種し、静置又はゆるやかに通気撹拌を行なう。炭素源としては、グルコース、シュクロース、マルトース、澱粉加水分解物、糖密等が利用されるが、エタノール、酢酸、クエン酸等も単独あるいは上記の糖と併用して利用することができる。窒素源としては、硫酸アンモニウム、塩化アンモニウム、リン酸アンモニウム等のアンモニウム塩、硝酸塩、尿素、ペプトン等の有機あるいは無機の窒素源が利用される。無機塩類としては、リン酸塩、マグネシウム塩、カルシウム塩、鉄塩、マンガン塩等が利用される。有機微量栄養素としては、アミノ酸、ビタミン、脂肪酸、核酸、さらにはこれらの栄養素を含むペプトン、カザミノ酸、酵母エキス、大豆蛋白加水分解物等が利用され、生育にアミノ酸等を要求する栄養要求性変異株を用いる場合には要求される栄養素をさらに補添する必要がある。

【００２０】培養条件も通常でよく、ｐＨを５ないし９そして温度を２０ないし４０℃に制御しつつ１ないし３０日間培養すれば表層にバクテリアセルロースがゲル状に蓄積される。

【００２１】本発明で使用するバクテリアセルロースは微生物の培養物から単離された精製品のほか、用途に応じある程度不純物を含むものであっても良い。例えば培養液中の残糖，塩類，酵母エキス等が微生物セルロースに残留していてもさしつかえない。また、菌体がある程度含まれていても良い。

【００２２】このゲルを取り出して必要により、水洗する。この水洗水には目的に応じて殺菌剤、前処理剤などの薬剤を添加することができる。

【００２３】水洗後は乾燥しあるいは他の混練物等と混練後乾燥して使用に供する。乾燥の方法は、どのような方法でもよいが、通常セルロースが分解しない温度範囲で行なうことが必要なのは言うまでもない。又、該セルロース性物質は表面に多数の水酸基を有する微細な繊維より成っているので、乾燥中に繊維が相互膠着することにより繊維状の形態が失なわれることがある。したがって、これを防止して微細な繊維状の形態を生かして使用

4

したい時は、凍結乾燥や臨界点乾燥等の方法を用いた方が望ましい。

【００２４】バクテリアセルロースは引張り強度等の力学的強度を高めるためにミクロフィブリルがからみ合った構造にするのがよく、そのために例えば培養物から取り出したゲルを直角方向から加圧して圧搾することにより自由水の大部分を除去してから乾燥する方法は有効である。圧搾圧力は1～１０ｋｇ／ｃｍ^2程度が適当である。この圧搾によって乾燥後のセルロースは圧搾方向に応じて配向したものになる。また、圧力を加えながら一方向に延ばす操作、すなわち圧延操作を行なうことによって乾燥後のセルロースは圧搾方向に加えて圧延方向に対しても配向性を有するに至る。圧搾装置は市販の機種のなかから適宜選択して利用することができる。

【００２５】一方、バクテリアセルロースを一旦離解することも力学的強度を高めるうえで有効である。離解は機械的な剪断力を利用して行なえばよく、例えば回転式の離解機あるいはミキサー等で容易に離解できる。離解後に前記の圧搾を行なうことも有効である。

【００２６】本発明の高力学強度成形材料は、シート状、糸状、布状、立体状など各種形状に成形することができる。

【００２７】シート状にする場合には、バクテリアセルロースを必要により離解してから層状にし、これを必要により圧搾して乾燥すればよい。圧搾によって面配向したものが得られるほか、圧延を加えることによって面配向するとともにさらに一軸配向したシートを得ることができる。

【００２８】離解及び／又は圧搾を終了したシートの乾燥は適当な支持体に固定して行なうことが望ましい。この支持体へ固定することによって面配向度がさらに高まり、力学的強度の大きなシートを得ることができる。支持体には例えば網状構造をもった板、ガラス板、金属板などを利用できる。乾燥温度はセルロースが分解されない範囲であればよく加熱乾燥法のほか凍結乾燥法も利用できる。

【００２９】このようにして得られたシートは、第１図に示すように、ミクロフィブリルがランダムにからみ合った構造をしている。そして、Ｘ線回折像によると圧搾したものは面配向しており、圧延も加えたものは面配向と同時に一軸配向もしている。シートの弾性率は通常１０～２０ＧＰａ程度である。

【００３０】シートの厚さは用途に応じて定められるが、通常１～５００μｍ程度である。

【００３１】シートには各種の添加剤を加えることができる。例えば、各種の高分子材料の溶液（水性又は非水性）、エマルジョン、ディスパージョン、粉体、溶融物等を加えることにより、その添加物の特性に応じて、強度、耐候性、耐薬品性、耐水性、撥水性、静電防止性等の幾つかを付与することができる。アルミニウム、銅、

BNSDOCID: <JP_____408035155A_I_>

鉄、亜鉛などの金属又はカーボンを粉末状あるいは糸状で加えれば導電性及び熱伝導性を高めることができる。また、酸化チタン、酸化鉄、炭酸カルシウム、カオリン、ベントナイト、ゼオライト、雲母、アルミナ等の無機質材料を加えればその種類に応じて耐熱性、絶縁性などを改善し、あるいは表面に平滑性を付与することができる。低分子有機質あるいは接着剤を加えることによって強度をさらに増すことができる。フタロシアニン、アゾ化合物、アイ、ベニハナなどの色素で着色してもよい。着色にはそのほか各種の塗料、染料、顔料を利用することができる。医薬品、殺菌剤を加えることによってメディカルシートとして利用することもできる。

【００３２】これらの混練物、添加剤は９７％以下で目的の物性が得られる適当な量が加えられる。これらの添加時期は問うところではなく、バクテリアセルロースゲルあるいはその離解物に加えてもよく、圧搾後に加えてもよく、また乾燥後に加えてもよい。さらに、培地中あるいは培養物に加えてもよい場合もある。添加方法も混合のほか含浸によってもよい。

【００３３】このようなシートには他の物質の層を積層することもできる。積層物はシートの使用目的に応じて適宜選択される。前述の混練物あるいは添加物のなかから選択することもでき、例えば耐水性の付与のために各種高分子材料をコーティングすることができる。

【００３４】紙として利用する場合には、バクテリアセルロースゲルを離解後抄紙して乾燥すればよく、それによって引張強度、耐伸縮性等にすぐれるとともに化学的に安定で吸水性、通気性にすぐれた高弾性及び高強度の紙を得ることができる。この場合、製紙に使用される通常の添加剤、処理剤等を利用することができ、また、前述の混練物、添加剤のなかから選択して加えることもできる。

【００３５】近年、電気絶縁紙、耐熱紙、難燃紙等の要求が高まり、非セルロース繊維を使用した合成紙、無機紙等が作られるようになった。これらを湿式法で作ろうとする場合には、非セルロース繊維が水素結合を行なわないため、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリアクリコニトリル、芳香族ポリアミド等の繊維の如くパルプ化された繊維が得られる場合を除いて、セルロースパルプを添加して抄紙を行なう必要がある。この場合には出来る限りパルプ量を少なくして絶縁性、耐熱性、難燃性を向上させることが要求される。しかし、一般に使用されている木材パルプを混抄する場合には、添加量は２０～５０％に達し、目的が充分に達せられない。しかるに、木材パルプの代りにバクテリアセルロースを用いることにセルロース量を大幅に減少させることができ、絶縁性、耐熱性、難燃性にすぐれた紙を得ることができた。従って本発明の高力学強度成形材料はこれらにも有効である。

【００３６】また、光架橋性ポリビニルアルコールは従

来の光架橋性樹脂と比較して生物に対する親和性がよいといわれており、酵素、微生物等の固定化剤の用途がこれによりさらに向上すると考えられている。また、印刷の原板を製作するときに使用されるフォトレジストは、基板上に樹脂を塗り、これに印刷すべき図案等を投影して光架橋を起こさせて樹脂を硬化させ、未硬化樹脂を洗い流して印刷原板を製作するものであるが、水溶性であるこの光架橋性ポリビニルアルコールはフォトレジストにも従来の油溶性のものに比べて安価で洗浄が容易という利点を有しており、応用が期待されている。しかし、これらの場合に水によって光架橋性ポリビニルアルコールが膨潤し架橋構造が破壊されてしまうという問題があった。しかるにバクテリアセルロースを加えることによってこの膨潤を阻止することができる。

【００３７】糸とする場合には、例えばバクテリアセルロースゲル又はその離解物を洗浄、乾燥した後、ジメチルアセトアミド／塩化リチウム系溶媒等に溶解し、溶解物を水又はアルコール類、ケトン類、ジオキサン、テトラヒドロフラン等のセルロースが不溶でセルロースの溶媒が可溶な凝固液を用いて紡糸すればよい。

【００３８】布とする場合には、この糸を用いて常法により織り上げればよい。

【００３９】立体物にする場合には、バクテリアセルロースに各種プラスチックを混練し、あるいはさらに積層することによって目的の成形品とする。これは例えば各種ＦＲＰ製品あるいは炭素繊維製品などに代替しうるものである。

【００４０】固定化担体としては従来、寒天、カラギーナンアルギン酸、ゼラチン、コラーゲン、ポリアミノ酸、光架橋性樹脂、ポリアクリルアミド及び各種樹脂等が用いられ、ポリ塩化ビニリデン、ポリエステル等の網、繊維を補強材としてこれらの担体に混合することにより、強度の向上とか粘着の紡糸がはかられてきた。ところがこの固定化物においては、補強材により担体が大きくなって単位面積当たりの表面積が減少し、担体内の基質拡散が阻害されたり、担体に固定化される酵素、生体由来物質、触媒、その他の反応性物質（以下「活性成分」という）の濃度が相対的に減少したりして反応速度や反応収率が低下するという問題があった。又、活性成分が固定化担体から漏出するために長期間あるいは繰り返し使用すると、次第に活性が低下していくという問題があり、従来のポリ塩化ビニリデン、ポリエステル等の補強材を加えても、活性成分の担体からの漏出を防ぐことは困難であった。従来の固定化担体の内、非常に弱いゲル、一例を挙げると光架橋性ポリビニルアルコールの６％水溶液を架橋させたものを固定化担体として用いる場合には、水によって膨潤が引き起こされる為に固定化担体が破壊されるという問題もあった。

【００４１】これまでの固定化担体補強材に代えて、バクテリアセルロースをそのままの状態や、離解し、ある

BNSDOCID: <JP_____408035155A_I_>

いはこれらの物をさらして乾燥して用いることにより、上記の問題点を解決して従来にない高強度な固定化担体を得ることができる。

【００４２】このような固定化担体を製造するには、次のような方法がある。基本的には、該バクテリアセルロースと、下記の固定化担体素材を混合してからゲル化、重合又は成形させればよい。又、必要に応じて、この混合時に固定化目的の活性成分を一緒に加えて固定化してもよいし、固定化担体を製造後活性成分を固定化してもよい。

【００４３】担体素材としては、該バクテリアセルロースと混合可能なものであれば特に限定されないが、例えば以下のようなものを利用できる。アガロース、デキストラン、セルロース、セルロース誘導体、アルギン酸、アルギン酸塩、キチン、キトサン、コラーゲン、アルブミン、アミノ酸ポリマー、ポリスチレン、ポリアクリルアミド、タンニン、シリコンゴム、カゼイン、寒天、カラギーナン、ポリウレタン、ポリ－２－ヒドロキシエチルメタクリル酸、ポリビニルクロリド、γ－メチルポリグルタミン酸、ポリビニルピロリドン、ポリジメチルアクリルアミド、光架橋性樹脂、ポリエチレングリコール誘導体、ポリプロピレングリコール誘導体、ポリブタジエン誘導体、コロジオン、ナイロン、ポリウレア、シリカゲル、シリコン誘導体、フェニルシロキサン、フィブリン、硝酸セルロース、炭化水素、リン脂質、リン酸カルシウムゲル、フェノキシアセチル化物、グルコマンナン等。

【００４４】固定化担体の製造方法について述べると、該バクテリアセルロースが微生物によって産生されたままのゲル状である場合、このゲル状のものを乾燥させることによって得られる乾燥物である場合、あるいはゲル状のものを離解後乾燥させることによって得られる乾燥物の内繊維状の形態を保っていないものである場合には、担体素材を適当な溶媒で溶液としあるいは溶融状態とすることによって流動性を持たせてから、該バクテリアセルロースに含浸し、これをゲル化させれば固定化担体が得られる。ゲル化の方法は、担体素材によって千差万別であるが、例えば、アルギン酸ナトリウムの場合は混合後塩化カルシウム溶液に入れればよいし、寒天の場合は温度を下げればよい。

【００４５】該バクテリアセルロースが離解された状態、あるいはこれを凍結乾燥や臨界点乾燥等の方法によって得られる繊維状の形態を残したままの乾燥状態の場合には、これら該バクテリアセルロースと担体素材とを、前記のような含浸とはことなり、通常の方法で混合を行なってからゲル化、重合又は成形することにより固定化担体が得られる。

【００４６】固定化担体中の該バクテリアセルロースの濃度は０．０１％～９９％、好ましくは０．１～２％程度がよい。

【００４７】以上のような方法で得られた固定化担体の形状は、反応の種類や方法に従って自由に選択可能である。例えば、カラムにつめたり、撹拌槽に入れたりする場合はじゅず玉状に加工すればよいし、必要に応じて棒状や膜状にしてもよい。離解した該バクテリアセルロースを担体素材と混合させてからゲル化、重合又は成形させることにより固定化担体を製造する場合には、従来と同様の方法で固定化担体を加工成形すればよい。

【００４８】一方、微生物によって産生されたままのゲル状から直接固定化担体を製造する場合には、担体素材をゲル状該バクテリアセルロースに含浸させてからゲル化させればよい。所定の形に加工するには、ゲル状バクテリアセルロースを必要な形状に加工してから担体素材を含浸させても良いし、一方、固定化担体を製造してから必要な形状に加工しても良い。

【００４９】本発明の固定化担体に固定化される活性成分は酵素、微生物、生体由来物質、触媒、その他の反応性物質であり、一般に用いられるものであればよい。活性成分の酵素例としては、アスパルターゼ、Ｌ－アスパルテートβ－デカルボキシラーゼ、Ｌ－ロイシンデヒドロゲナーゼ、ヒダントイナーゼ、ＤＬ－２－アミノ－Δ^{2}－チアゾリン－４－カルボン酸水解酵素、ジヒドロピリミジナーゼ、アシルアミノ酸に作用するアシラーゼ、トリプトファナーゼ、トリプトファンシンセターゼ、チロシナーゼ、フマラーゼ、ヒスチジンアンモニアリアーゼ、Ｌ－アミノ酸オキシダーゼ、α－アミラーゼ、β－アミラーゼ、インベルターゼ、グルコースイソメラーゼ、ペニシリンアシラーゼ、セファロスポリンアシラーゼ、５’－ＡＭＰデアミナーゼ、アルギニンデイミナーゼ、アルドラーゼ、システインデスルフヒドラーゼ、メチオニナーゼ、ホスホジエステラーゼ、キモトリプシン、トリプシン、パパイン、ナリンギナーゼ、ラクターゼ、グルコアミラーゼ、ロイシンアミノペプチダーゼ、ペプシン、アミノラクタムヒドロラーゼ、アミノラクタムラセマーゼ、グルタミン酸デヒドロゲナーゼ、アスパラギン酸デカルボキシラーゼ、プルラナーゼ、ヒアルロニダーゼ、１，４－α－グルカンホスホリラーゼ、シクロデキストリングリコシルトランスフェラーゼ、デキストランシュクラーゼ、α－グルコシダーゼ、β－グルコシダーゼ、ヘキソキナーゼ、Δ^{1}－脱水素酵素、１１β－水酸化酵素、２０β－脱水素酵素、３β－脱水素酵素、Δ^{1}－水酸化酵素、ステロイドのエステラーゼ、５’ホスホジエステラーゼ、ＡＴＰデアミナーゼ、酢酸キナーゼ、アデニル酸キナーゼ、アデノシンキナーゼ、カルバミルホスホキナーゼ、ピルビン酸キナーゼ、解糖系酵素キモシン、アルカリプロテアーゼ、レンニン、プロナーゼ、プロテアーゼ、カタラーゼ、リゾチーム、Ｄ－オキシニトラーゼ、アルコールデヒドロゲナーゼ、グルコース－６－リン酸デヒドロゲナーゼ、硝酸レダクターゼ、亜硝酸レダクターゼ、ロダネーズ、グルタミナー

BNSDOCID: <JP_____408035155A__I_>

9

ゼ、ウリカーゼ、ペルオキシダーゼ、リパーゼ、コレステロールオキシダーゼ、ペニシリナーゼ、アルカリホスファターゼ、酸性ホスファターゼ、アセチルコリンエステラーゼ、等が挙げられる。活性成分の微生物例としては、ブレビバクテリウム・アンモニアゲネス、エシェリヒア・コリ、エルビヘルビコーラ、ストレプトコッカス・フェカーリス、シュードモナス・プチダ、セラチア・マセランス、バチルス・ズブチルス、アセトバクター・アセチ、ラクトバチルス・デルブレッチィ、シュードモナス・フルオレッセンス、ミクロコッカス・ルテウス、バチルス・メガテリウム、ペニシリウム・クロリゲナム、カンジダ・トロピカリス、サッカロマイセス・セルビシエ等が挙げられる。そのほか、必要に応じて動物細胞、植物細胞等を固定化してもよい。

【００５０】このようにして得られた固定化物は微生物や酵素を用いた医薬、食品等の有用物質の生産に利用できる。又、分析及び工業生産工程におけるバイオリアクターとしても利用できる。

【００５１】又、触媒及びその他の反応性物質は該バクテリアセルロースと共存できかつ通常の化学反応等に用いられる有機及び無機物質であればよい。これらのものはカラムに充填し、反応床として使用することもできるし、各種クロマトグラフィにも利用できる。一方、粒径、サイズを選択することにより、物理的に目的物質を分離選択又は精製することに固定化担体を用いることもできる。

【００５２】

【作用】バクテリアセルロースはリボン状ミクロフィブリルからなっており、引張り強度、耐伸縮性、弾性などの力学強度が大きい。この力学強度は各ミクロフィブリルがからみ合うことによって高まり、配向性を付与することによって当該方向への強度がさらに高まる。バクテリアセルロースはプレスによって配向しやすいという性質をもっている。

【００５３】

【実施例】

実施例１

シュクロース５ｇ／ｄｌ、酵母エキス(Ｄｉｆｃｏ)０．５ｇ／ｄｌ、硫安０．５ｇ／ｄｌ、KH_2PO_4 ０．３ｇ／ｄｌ、$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ０．０５ｇ／ｄｌ(ｐＨ５．０)の組成の培地５０ｍｌを２００ｍｌ容三角フラスコに張込み、１２０℃で２０分間蒸気殺菌した。これに酵母エキス０．５ｇ／ｄｌ、ペプトン０．３ｇ／ｄｌ、マンニトール２．５ｇ／ｄｌ(ｐＨ６．０)の組成の試験管斜面寒天培地で生育させた（３０℃、３日間）アセトバクター、アセチ、サブスピーシス、キシリナムＡＴＣＣ　１０８２１を１白金耳づつ接種し３０℃で培養した。３０日後、培養液の上層に白色のバクテリアセルロース性多糖を含むゲル状の膜が形成された。

【００５４】こうして得られたゲル状膜を水洗して約１

10

ｃｍの厚さに広げ、テストプレス機(テスター産業（株）)を用いて１０ｋｇ／ｃｍ²程度の圧力でプレスして水分を絞り出した。これをガラス板に貼り付けて１０５℃で２時間乾燥し、厚さ約１０μｍのシートを得た。

【００５５】得られたシートのＸ線回折図を第１図に示す。この図は、シート面に対して平行の回転軸をとり、シートを回転させつつＸ線を回転軸に対して直角に入射させて撮影した回折像である。同図に示すように、（イ）１０１面、（ロ）１０１面及び（ハ）００２面のいずれも配向しており、このシートは極めて高度の面配向をしているものであった。

【００５６】このシート及び既存のセルロース性シートさらには各種高分子２次元材料について、弾性率を引張試験機を用いて測定した結果を下表に示す。

【００５７】

【表１】

シート	弾性率
本発明品	15.8ＧＰａ
セロファン	1.5
セルロイド	2.0
Ｎｏｍｅｘ*1	7.0
ルミラー*2	4.9

＊１　ポリメタフェニレンイソフタールアミドのシート

＊２　二軸延伸ポリエチレンテレフタレートシート

【００５８】実施例２

実施例１で使用したものと同じゲル状のバクテリアセルロースをロールプレス機（吉田工業(株)）を用いて一方向に圧延しつつ圧搾した。このものをやはりガラス板に貼り付けて１０５℃で２時間乾燥し、シートを得た。

【００５９】得られたシートのＸ線回折図を第２図に示す。この図は、シートを固定し、フィルム面に対してＸ線を垂直に入射させて撮影した回折像である。図中、矢印は圧延方向を示している。同図に示すように、（イ）１０１面、（ロ）１０１面及び００２面の全てに配向が見出され、一軸配向性が明瞭である。また、面配向についても第１図とほぼ同様の配向性が認められた。

【００６０】このシートの弾性率を実施例１と同様にして測定したところ圧延方向で２０ＧＰａであった。

【００６１】実施例３

ノボロイド繊維（郡栄化学工業製・商品名カイノール繊維ＫＦ０２０３，φ１４μｍ，３ｍｍ長)に対しバクテリアセルロースを添加し、坪量６０ｇ／ｍ²のシートをＴＡＰＰＩ法により抄紙した（ＴＡＰＰＩ ｓｔａｎｄａｒｄ Ｔ２０５ｍ－５８）。

【００６２】また、比較のため通常の木材パルプ（Ｎ．Ｕ．ＳＰ）を高度に叩解したもの（ＣＳＦ２４５ｍｌ）とカイノール繊維との混抄紙も作製した。

BNSDOCID: <JP_____408035155A__I_>

11

【００６３】これらのシートの裂断長を自記記録式引張試験機で測定した。結果は次表の如くになった。

【００６４】

【表２】

		裂断長
カイノール95部B.C.	5部	0.33km
カイノール90部B.C.	10部	0.79km
カイノール80部B.C.	20部	1.67km
カイノール90部N.U.SP	10部	0.12km

12

＊【００６５】バクテリアセルロースの使用により、少量の添加で抄紙が可能となり、また強度も大となった。通常のパルプ使用の場合には、１０部以下の使用では抄紙不能であった。

【００６６】実施例４

種々の無機繊維を使用し、B.C.との混抄紙を作製し裂断長を測定した。結果は次表の通りであった。

【００６７】

【表３】

＊10

カーボン繊維（東レ・トレカT008）3㎜長 バクテリアセルロース	95部 5部	裂断長0.15km
カーボン繊維（東レ・トレカT008）6㎜長 バクテリアセルロース	90部 10部	裂断長0.64km
アルミナ繊維（デンカ製アルセン・バルク） バクテリアセルロース	90部 5部	裂断長0.24km

【００６８】いずれの場合にも５～１０％の添加で抄紙が可能であった。

【００６９】実施例５

ゲル状のバクテリアセルロースをプレス、乾燥しシートを得た。振動リード法により測定したヤング率Eは次の如くであった。

E＝１３．６GPa

【００７０】この値は木材パルプのみで作られた紙の通常のヤング率の５～１０倍である。

【００７１】実施例６

ゲル状のバクテリアセルロースをホモジナイザーにより離解し、ＴＡＰＰＩ法により抄紙した、このものの振動リード法で測定したヤング率Eは、

E＝７．４GPa

【００７２】また、濾水性を向上させ、微細粒子の歩留りを向上させる目的でポリアミドエピクロルヒドリン樹脂(ディック・ハーキュレス社製カイメン５５７H)５％（固形分比）を添加し、抄紙した。この紙のEは次の通りであった。

E＝８．１GPa

【００７３】いずれの場合も高強度の紙が得られた。

【００７４】実施例７

木材パルプ（N.U.KP）（ＣＳＦ５４０ｍｌ）に対しバクテリアセルロース（B.C.）を加え、さらに硫酸バン±５％（固形分比）を添加して抄紙した紙の特性は次の通りであった。

【００７５】

【表４】

N.U.KP	100部	裂断長　3.69km
N.U.KP B.C.	80部 20部	裂断長　4.81km
N.U.KP	100部	E＝1.38GPa
N.U.KP B.C.	80部 20部	E＝2.16GPa

【００７６】B.C.の添加により紙強度が向上した。

【００７７】実施例８

所定の培養で得られたゲル状のバクテリアセルロースを標準パルプ離解機で離解した後１２５ｍｅｓｈのふるいで濾過して固型分含量約８．８％のペースト状の離解物を得た。これを以下の実験に使用した。

【００７８】光架橋性ポリビニルアルコール(ＰＶＡ)－ＳｂQ(GH－１７ＳｂQ　１０．５ｗｔ％　１．２ｍｏｌ％　東洋合成工業(株))と上記の離解物と水を暗室中で下表の割合で混合した。

【００７９】

【表５】

試料	(a)	(b)	(c)
1	21.0	6.0	7.5
2	21.0	1.8	11.7
3	21.0	0.6	12.9
4	21.0	0.1	13.5

（a）　ＰＶＡ－ＳｂQ（GH１７ＳｂQ　１０．５ｗｔ％　１．２ｍｏｌ％）

（b）　バクテリアセルロース離解物（乾燥重量換算）

（c）　H_2O

【００８０】上の表の混合物をアクリル板上にガラス棒で厚さ約０．７ｍｍに流延した。これを一晩風乾後さらに４０℃、３０ｍｉｎ風乾した。ここまでの操作は暗室

BNSDOCID: <JP_____408035155A_I_>

中で行なった。これを３０分間日光下で露光し架橋して、シートを得た。

【００８１】上記のものを３×１ｃｍのリボン状に切断し水中に入れ２ｈｒ膨潤試験を行なった。結果を下表に＊示す。

【００８２】

【表６】

試　料	長さ×幅（cm） 0h → 2h		長さ膨潤率	重量×10²(g) 0h → 2h		重量膨潤率
1	3×1	3.2×1.1	1.07	2.46	4.87	1.98
2	3×1	3.3×1.1	1.10	1.18	2.56	2.17
3	3×1	3.3×1.1	1.10	1.43	3.34	2.36
4	3×1	4.0×1.3	1.33	1.02	2.63	2.50

【００８３】バクテリアセルロースを入れることにより、膨潤を阻止できた。

【００８４】次はこのシートの引張試験を行なった。

【００８５】

【表７】

試　料	引張弾性率（ＧＰａ）
1	1.61
2	1.71
3	1.32
4	1.01

【００８６】バクテリアセルロースを入れることにより、弾性率を１．３～１．６倍に改善することが出来た。

【００８７】実施例９

実施例８の表の組成の混合物を厚さ１mmのスライドガラスをスペーサーとして２枚のガラス板の間にサンドイッチ状にはさんだ。これをそのまま日光で３０分間露光して架橋させ、湿潤状態のコンニャク状のゲルを得た。これを蒸留水中に入れ実施例８と同様に膨潤試験を行なった。結果を下表に示す。

【００８８】

【表８】　※

試　料	重　量（g） 0h → 2h	吸　水　比
1	1.75 → 3.97	
2	0.90 → 3.95	4.4
3	0.48 → 5.05	10.5 } ＊
4	1.74 → 40.3	23.2 } ＊

＊試料３，４は膨潤することにより破壊された。

【００８９】バクテリアセルロースを混入することにより、ゲルの膨潤と破壊が阻止された。

【００９０】実施例１０

乾燥したバクテリアセルロース３．５部にジメチルアセトアミド１００部を加え、６０分間還流撹拌した。次に、１００℃に冷却して塩化リチウム１０部を徐々に添加した後、室温で１昼夜撹拌してバクテリアセルロースを溶解した。この紡糸原液をテトラヒドロフラン凝固液、紡糸ドラフト１．５浴長８０ｃｍで紡糸し紡糸浴から出た糸条を５０℃の水中で５０％延伸してから乾燥した。得られた繊維の性質は下表に示したとおりである。また、比較のために木材パルプ（Ｌ．Ｂ．ＫＰ）についても同様に紡糸した。

【００９１】

※　【表９】

	乾強度（g／d）	湿強度（g／d）	乾伸度（%）	湿伸度（%）
B.C.	5.4	4.6	8.1	12.3
L.B.KP	3.2	2.1	5.7	7.9

【００９２】実施例１１

銅粉（福田金属箔粉工業製φ１０μｍ）と木材パルプ（Ｎ．Ｕ．ＫＰ）（ＣＳＦ５４０ｍｌ）との混合物に離解したバクテリアセルロースを加え、ＴＡＰＰＩ法により抄紙した。また、比較のために銅粉と木材パルプとの混抄紙も作成した。これらのシートについて自動記録式引張り試験機で物性を測定した。結果を次表に示す。

【００９３】

【表１０】

	伸び（%）	強度 kg／mm²	弾性率 kg／mm²
銅粉100部N.U.KP10部．BC5部	1.6	0.68	560
銅粉100部N.U.KP10部	1.6	0.23	310

BNSDOCID: <JP_____408035155A_I_>

15

【００９４】バクテリアセルロースの使用により、銅粉の洩れがなく、また強度も大巾に向上した。通常のパルプの場合は銅粉の６０％以上が洩れて流出した。

【００９５】実施例１２

木材パルプ（N.U.KP）（ＣＳＦ５４０ｍｌ）に対して離解したバクテリアセルロース（ＢＣ）を加え、TAＰＰＩ法により抄紙した。この紙にフェノール樹脂を含浸させて風乾し熱プレス加工によりフェノール積層板を＊

16

＊作製した。

【００９６】また、比較のために木材パルプのみによるフェノール積層板も同様に作製した。これらのフェノール積層板をダンベル１号型（ＪＩＳ Ｋ－７１１３）に成型し、自動記録式引張り試験機により物性を測定した。結果を次表に示す。

【００９７】

【表１１】

	伸び (%)	強度 kg／mm²	弾性率 kg／mm²
N.U.KP95部，ＢＣ５部	5.2	808	4400
N.U.KP100部	4.4	658	3300

【００９８】バクテリアセルロースの使用によりフェノール積層板の強度が大巾に向上した。

【００９９】実施例１３

実施例１で使用したものと同じゲル状のバクテリアセルロースを１５０℃、５ｋｇ／ｃｍ²で５分間熱プレス(吉田工業(株))し、シートを得た。得られたシートにポリエチレンイミン処理したポリエチレンフィルムを３２０℃でラミネートしラミネートフィルムを作製した。このラミネートフィルムを自動記録式引張り試験機により物性を測定した。その結果、弾性率が１６．２ＧＰａと通常のセロハンーポリエチレンラミネートフィルムの弾性率１．７ＧＰａより大巾に向上したラミネートフィルムを得た。

【０１００】実施例１４

窒化ケイ素及び炭化ケイ素（タテホ化学製１０μｍ長）に対して離解したバクテリアセルロース（ＢＣ）を加え、ＴＡＰＰＩ法により抄紙した。また、比較のために、木材パルプ（N.U.KP）及びミクロフィブリルセルロース（ＭＦＣ：ダイセル化学製）との混抄についても同様に行った。得られたシートを自動試録式引張り試験機により物性を測定した。その結果を次表に示す。

【０１０１】

【表１２】

	弾性率kg／mm²
窒化ケイ素100部，ＢＣ５部	150
炭化ケイ素100部，ＢＣ３部	120
炭化ケイ素100部，ＢＣ10部	350
炭化ケイ素100部，N.U.KP５部	80

【０１０２】バクテリアセルロースの使用により、窒化ケイ素及び炭化ケイ素の洩れがなくまた弾性率も大巾に向上した。通常のパルプの場合は窒化ケイ素及び炭化ケイ素の６０％以上が洩れて流出しＭＦＣの場合はその殆んどが洩れて流出した。

【０１０３】実施例１５

フマル酸２ｇ／ｄｌ、リン酸二水素カリウム０．２ｇ／ｄｌ、硫酸マンガン４水塩１ｍｇ／ｄｌ、硫酸マグネシウム７水塩１ｍｇ／ｄｌ、塩化カルシウム０．０５ｇ／ｄｌ、酵母エキス(Ｄｉｆｃｏ)１．０ｇ／ｄｌ、ペプトン(Ｄｉｆｃｏ)１．０ｇ／ｄｌの組成の液体培地をアンモニアを用いてｐＨ７．０に調整した。この培地を５００ｃｃの坂口フラスコに５０ｍｌずつ分注し、Ｅ．ｃｏｌｉ ＡＴＣＣ １１７７５を一白金耳ずつ接種して３０℃で２４時間培養した。菌体を常法に従い遠心分離により回収した。さらに生理食塩水を用いて２回洗浄後、湿重量と同量の生理食塩水に懸濁した。

【０１０４】この菌体を以下の方法によりゼラチン＋本セルロースで作った担体に固定化を試みた。固定化法としては、特開昭５９－６６８８６号公報に記載されているトランスグルタミナーゼによる固定化法を用いた。ゼラチン（宮城化学）、該バクテリアセルロースを離解した物を下記の表に示した組成にて混合した。この混合液にさらに菌体を濃度３．５％となるように混合してから、特開昭５９－６６８８６号公報に記載されている方法に従い、トランスグルタミナーゼをゼラチン１ｍｇに対して０．１ユニット加え２５℃に１時間放置してゲル化させた。このゲルを５mm角のサイの目状に切断して反応液に添加してアスパルターゼの活性を調べた。反応液は、フマル酸２０ｇ／ｄｌ、１mM・$MgSO_4$・$7H_2O$を含有する溶液をアンモニアを用いてｐＨ８．５に調整して用いた。反応液全量に対して菌体濃度が０．５％となるように菌体固定化ゼラチンゲルを反応液に入れた。反応は１時間行ない、５分おきにアスパラギン酸濃度をニンヒドリンによる比色で定量して反応初速度を求めた。反応液中への漏出菌数は、反応開始後３０分間経過した後にコロニーカウントにより求めた。結果を次表に示す。

【０１０５】

【表１３】

BNSDOCID: <JP_____408035155A_I_>

17　　18

ゼラチン濃度 (%)	補強材及添加濃度 (%)	漏出菌数 (cells/ml)
12.5	0	1.2×10^{8}
12.0	バクテリアセルロース 0.5	1.1×10^{7}
12.5	バクテリアセルロース 0.5	9.8×10^{6}
12.0	ポリエステル紗 0.5	1.4×10^{8}
12.5	ポリエステル紗 0.5	1.1×10^{8}

【０１０６】酵素活性は、反応初速度より求めた。なお、酵素活性は、バクテリアセルロースを添加しない場合の１回目を１００とし相対値で表わした。又、反応＊は、１０回くりかえした。結果を次に示す。

【０１０７】

【表１４】

ゼラチン濃度 (%)	補強材及添加濃度 (%)	アスパルターゼ相対活性 1回目	10回目
12.5	0	100	35
12.0	バクテリアセルロース 0.5	99	80
12.5	バクテリアセルロース 0.5	102	85
12.0	ポリエステル紗 0.5	103	37
12.5	ポリエステル紗 0.5	97	38

【０１０８】バクテリアセルロースを添加することにより菌体の漏出が防止された為、繰り返し使用後の活性の維持が可能となった。

【０１０９】また、前記の表に示したものと同様のゼラチン及び補強材を添加したゼラチンの破壊強度を測定した。測定は、前述のゼラチン溶液を直径２２ｃｍの円筒形のプラスチック容器の中でゲル化させた後に、レオメーター（不動工業社，ＮＲＭ２００２Ｊ）にセットし５ｍｍφのアダプターを直接ゲルに侵入させたときの最大荷重を破壊強度として表わすことにより行なった。結果を次表に示す。

【０１１０】

【表１５】

ゼラチン濃度 (%)	補強材及添加濃度 (%)	破壊強度 (g)
12.5	0	90
12.5	バクテリアセルロース 0.5	145
12.5	バクテリアセルロース 0.5	194
12.0	ポリエステル紗 0.5	111
12.5	ポリエステル紗 0.5	128

【０１１１】バクテリアセルロースは、従来の補強材よりも優れた補強効果が認められた。

【０１１２】実施例１６

アルギン酸ゲルへの固定化は、アルギン酸ナトリウムとバクテリアセルロースを下記の表に従い混合した。次に常法に従い、０．１Ｍ $CaCl_2$ 溶液に滴下してじゅず玉状のゲルを得た。

【０１１３】反応条件等については実施例15の通りとして、アスパルターゼの反応を行なった。漏出菌数については、反応液を取り変えずに３０分たったところでコロニー数により求めた。結果を次表に示す。

【０１１４】

【表１６】

BNSDOCID: <JP_____406035155A_I_>

アルギン酸濃度 (%)	補強材及添加濃度 (%)	30分後漏出菌数 (cells／ml)
1.5	0	2.1×10^{8}
1.0	バクテリアセルロース 0.5	5.3×10^{6}
1.5	バクテリアセルロース 0.5	1.5×10^{5}
1.0	ポリエステル紗 0.5	1.9×10^{6}
1.5	ポリエステル紗 0.5	2.0×10^{8}

【０１１５】上記の反応液を１５分ごとにとりかえて合計４回の固定化担体のくりかえし反応を行なった。酵素活性は、３分おきにアスパラギン酸の濃度を測定して初速度から求めた。結果を次表に示す。アスパルターゼ活＊性は該セルロース性物質を添加しない場合の１回目を１００とした時の相対値で示した。

【０１１６】

【表１７】

アスパラギン酸濃度 (%)	補強材及添加濃度 (%)	アスパルターゼ相対活性 1回目	2回目	3回目	4回目
1.5	0	100	85	32	20
1.0	バクテリアセルロース 0.5	101	92	79	60
1.5	バクテリアセルロース 0.5	97	90	87	85
1.0	ポリエステル紗 0.5	101	80	29	19
1.5	ポリエステル紗 0.5	98	89	39	25

【０１１７】バクテリアセルロースを補強材として添加した結果、菌体の漏出が防止されたために従来の固定化担体よりも本発明の高強度固定化担体の方がくり返し使用することが可能となった。

【０１１８】実施例１７

光架橋性樹脂に以下に述べる方法でインベルターゼを固定化した。インベルターゼ１部とリン酸緩衝液（ｐＨ６．０）２部を混合したものに光架橋性樹脂溶液（ｐＨ６０）２０部を混合した。この混合液をガラス板上に流延してから１日間風乾後光照射を１時間行ない架橋硬化※させた。補強材は、最終濃度が５％となるように添加した。

【０１１９】この固定化膜を５×５mmの大きさに細断し、ショ糖４ｇの溶液５０ｍｌ中で、４０℃２４ｈｒ撹拌反応してショ糖の分解率をしらべた。反応は１０回くりかえした。また破断応力，弾性率についても調べた。結果を次表に示す。

【０１２０】

【表１８】

補強材及添加濃度 (%)	破断応力 (NPa)	弾性率 (GPa)	インベルターゼ相対活性 1回目	10回目
0	25.1	0.95	100	98
バクテリアセルロース 5	32.0	1.53	100	99
ポリエステル紗 5	28.3	1.20	100	98

バクテリアセルロースの添加によって固定化酵素膜の強度である膜の破断応力，弾性率等の膜の物理特性が大きく改善された。このため酵素の固定化のための操作が容易となり該セルロース性物質を添加しない場合に比べて添加した場合は、操作に要する時間は３／４に短縮された。

【０１２１】

【発明の効果】本発明の高力学強度成形材料は引張強度、耐伸縮性、弾性等にすぐれている。特に圧搾後乾燥して得られたシートは弾性率が極めて高く、実施例品においては、現在知られている２次元材料のなかでは最も弾性率の高いポリメタフェニレンイソフタールアミドのシートの弾性率の２倍以上であった。

【０１２２】従ってこの材料は高い強度が要求される複合プラスチックス用の強化材として、例えば船、航空機、自動車などのボディ材料として、配線基盤等として、あるいは記録紙などの高級紙、打楽器の振動板等として使用できる。

【０１２３】加えて、この材料は天然物であって人の皮膚に対して炎症を生じさせなく、かつ通気性に優れているのでバンリコー基材として優れている。

【０１２４】また、物理的な応力による破壊や変形に対して優れている上に溶液等によって引きおこされる膨潤による破壊や変形にも強い。したがって、固定化担体として使用した場合に激しい撹拌や、非常に長いカラムへの充填が可能となるばかりか、従来強度的に弱すぎて使

BNSDOCID: <JP_____408035155A_I_>

21

用不可能であるような担体も固定化担体として新たに使用可能となる。この固定化担体を製造する際には、従来の固定化担体の製造過程において度々生じた活性成分の凝集がなく従って、固定化担体内に活性成分を均一に分散させることが出来る。

【図面の簡単な説明】

22

【図１】　アセトバクターアセティーサブスピーシスキシリナムの生産するセルロース性物質の電子顕微鏡写真である。

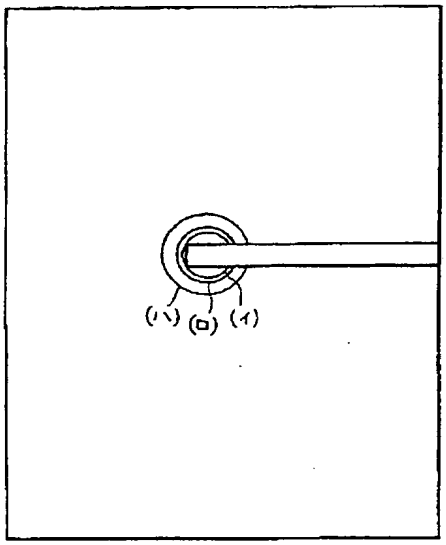
【図２】　本発明品のＸ線回折図形を示すものである。

【図３】　本発明品のＸ線回折図形を示すものである。

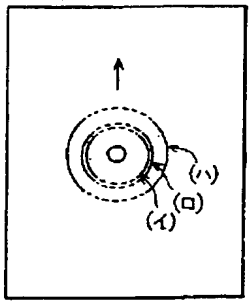
【図１】



【図２】



【図３】



【手続補正書】
【提出日】平成７年５月１９日
【手続補正１】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】全文
【補正方法】変更
【補正内容】
【書類名】　　明細書
【発明の名称】　　固定化担体補強材
【特許請求の範囲】
【請求項１】　リボン状ミクロフィブリルよりなるバクテリアセルロースよりなる固定化担体補強材
【発明の詳細な説明】
【０００１】
【産業上の利用分野】本発明はバクテリアの産生する特定のセルロースよりなる固定化担体補強材に関するものである。
【０００２】この補強材を菌体、酵素等を固体担体に加えることによって固定化物の強度向上のほか、使用時の菌体漏出量を減少させることができる。
【０００３】
【従来の技術】固定化担体としては従来、寒天、カラギーナンアルギン酸、ゼラチン、コラーゲン、ポリアミノ酸、光架橋性樹脂、ポリアクリルアミド及び各種樹脂等が用いられ、ポリ塩化ビニリデン、ポリエステル等の網、繊維を補強材としてこれらの担体に混合することにより、強度の向上とか粘着の紡糸がはかられてきた。
【０００４】また、バクテリアの産生するセルロースとしては、アセトバクター・キシリナム（Ａｃｅｔｏｂａｃｔｅｒ ｘｙｌｉｎｕｍ）ＡＴＣＣ ２３７６９が産生するシート状のものを医療用パッドに利用することが知られている（特開昭５９－１２０１５９号公報）。
【０００５】
【発明が解決しようとする課題】ところが、この固定化物においては、補強材により担体が大きくなって単位面積当たりの表面積が減少し、担体内の基質拡散が阻害されたり、担体に固定化される酵素、生体由来物質、触媒、その他の反応性物質(以下「活性成分」という)の濃度が相対的に減少したりして反応速度や反応収率が低下するという問題があった。又、活性成分が固定化担体から漏出するために長期間あるいは繰り返し使用すると、次第に活性が低下していくという問題があり、従来のポリ塩化ビニリデン、ポリエステル等の補強材を加えて

BNSDOCID: <JP_____408035155A_I_>

も、活性成分の担体からの漏出を防ぐことは困難であった。従来の固定化担体の内、非常に弱いゲル、一例を挙げると光架橋性ポリビニルアルコールの６％水溶液を架橋させたものを固定化担体として用いる場合には、水によって膨潤が引き起こされる為に固定化担体が破壊されるという問題もあった。

【０００６】バクテリアの産生するセルロースを利用したものとしては前述の例があるが、その利用は医療用パッドに限られており、高力学強度分野における素材として利用価値が高いことについては全く知られていなかった。

【０００７】本発明の目的は強度の向上、粘着の防止、菌体等の漏出防止機能を有する酵素、微生物等の固定化担体に用いうる高強度成形材料を提供することにある。

【０００８】

【課題を解決するための手段】本発明者らはこれらの目的を達成するべく種々研究を行ない、微生物の産生するリボン状のミクロフィブリルよりなるセルロースが引張り強さ等の力学強度が極めて大きく、また、菌体の保持性等にもすぐれていてこのバクテリアセルロースを固定化担体補強材に用いることによって前記目的を達成しうることを見出し、この知見に基いて本発明を完成するに至った。

【０００９】すなわち、本発明は、リボン状ミクロフィブリルよりなるバクテリアセルロースよりなる固定化担体補強材に関するものである。

【００１０】バクテリアセルロースは、第１図にその電子顕微鏡写真を示すように、幅１００～５００Å、厚さ１０～２００Å程度のリボン状ミクロフィブリルからなっている。一般にはゲルの形で得られ、その含水率は９５％（ｗ／ｖ）以上である。

【００１１】このセルロースはセルラーゼによって容易に分解され、グルコースを生成する。すなわち、本セルロースの０．１％（ｗ／ｖ）懸濁液にセルラーゼ（ＥＣ３，２，１，４）（天野製薬製）を０．５％（ｗ／ｖ）になるように溶かし、０．１Ｍ酢酸緩衝液中で３０℃で２４時間反応させた。その結果、本物質の一部が分解されることが観察され、上澄液をペーパークロマトグラフィーで展開したところグルコースのほかに少量のセロビオース、セロトリオース及びその他のセロオリゴ糖が検出された。このほかに少量のフラクトース、マンノース等が検出される場合もあった。

【００１２】すなわち、本発明のバクテリアセルロースはセルロース及びセルロースを主鎖としたヘテロ多糖を含むもの及びβ－１，３，β－１，２等のグルカンを含むものである。ヘテロ多糖の場合のセルロース以外の構成成分はマンノース、フラクトース、ガラクトース、キシロース、アラビノース、ラムノース、グルクロン酸等の六炭糖、五炭糖及び有機酸等である。なお、これ等の多糖が単一物質である場合もあるし、２種以上の多糖が水素結合等により混在していてもよい。

【００１３】バクテリアセルロースは上記のようなものであればいかなるものであっても使用可能である。

【００１４】このようなバクテリアセルロースを産生する微生物は特に限定されないが、アセトバクター・アセチ・サブスピーシス・キシリナム（Ａｃｅｔｏｂａｃｔｅｒａｃｅｔｉ ｓｕｂｓｐ・ｘｙｌｉｎｕｍ）ＡＴＣＣ１０８２１あるいは同パストウリアヌス（Ａ・ｐａｓｔｅｕｒｉａｎｕｓ）、同ランセンス（Ａ・ｒａｎｃｅｎｓ）、サルシナ・ベントリクリ（Ｓａｒｃｉｎａ ｖｅｎｔｒｉｃｕｌｉ）、バクテリウム・キシロイデス（Ｂａｃｔｅｒｉｕｍ ｘｙｌｏｉｄｅｓ）、シュードモナス属細菌、アグロバクテリウム属細菌等でバクテリアセルロースを産生するものを利用することができる。

【００１５】これらの微生物を培養してバクテリアセルロースを生成蓄積させる方法は細菌を培養する一般的方法に従えばよい。すなわち、炭素源、窒素源、無機塩類、その他必要に応じてアミノ酸、ビタミン等の有機微量栄養素を含有する通常の栄養培地に微生物を接種し、静置又はゆるやかに通気撹拌を行なう。炭素源としては、グルコース、シュクロース、マルトース、澱粉加水分解物、糖密等が利用されるが、エタノール、酢酸、クエン酸等も単独あるいは上記の糖と併用して利用することができる。窒素源としては、硫酸アンモニウム、塩化アンモニウム、リン酸アンモニウム等のアンモニウム塩、硝酸塩、尿素、ペプトン等の有機あるいは無機の窒素源が利用される。無機塩類としては、リン酸塩、マグネシウム塩、カルシウム塩、鉄塩、マンガン塩等が利用される。有機微量栄養素としては、アミノ酸、ビタミン、脂肪酸、核酸、さらにはこれらの栄養素を含むペプトン、カザミノ酸、酵母エキス、大豆蛋白加水分解物等が利用され、生育にアミノ酸等を要求する栄養要求性変異株を用いる場合には要求される栄養素をさらに補添する必要がある。

【００１６】培養条件も通常でよく、ｐＨを５ないし９そして温度を２０ないし４０℃に制御しつつ１ないし３０日間培養すれば表層にバクテリアセルロースがゲル状に蓄積される。

【００１７】本発明で使用するバクテリアセルロースは微生物の培養物から単離された精製品のほか、用途に応じある程度不純物を含むものであっても良い。例えば培養液中の残糖，塩類，酵母エキス等が微生物セルロースに残留していてもさしつかえない。また、菌体がある程度含まれていても良い。

【００１８】このゲルを取り出して必要により、水洗する。この水洗水には目的に応じて殺菌剤、前処理剤などの薬剤を添加することができる。

【００１９】これまでの固定化担体補強材に代えて、このバクテリアセルロースをそのままの状態や、離解し、あるいはこれらの物をさらして乾燥して用いることによ

BNSDOCID: <JP_____408035155A__I_>

り、従来にない高強度な固定化担体を得ることができる。

【００２０】このような固定化担体を製造するには、次のような方法がある。基本的には、該バクテリアセルロースと、下記の固定化担体素材を混合してからゲル化、重合又は成形させればよい。又、必要に応じて、この混合時に固定化目的の活性成分を一緒に加えて固定化してもよいし、固定化担体を製造後活性成分を固定化してもよい。

【００２１】担体素材としては、該バクテリアセルロースと混合可能なものであれば特に限定されないが、例えば以下のようなものを利用できる。アガロース、デキストラン、セルロース、セルロース誘導体、アルギン酸、アルギン酸塩、キチン、キトサン、コラーゲン、アルブミン、アミノ酸ポリマー、ポリスチレン、ポリアクリルアミド、タンニン、シリコンゴム、カゼイン、寒天、カラギーナン、ポリウレタン、ポリ－２－ヒドロキシエチルメタクリル酸、ポリビニルクロリド、γ－メチルポリグルタミン酸、ポリビニルピロリドン、ポリジメチルアクリルアミド、光架橋性樹脂、ポリエチレングリコール誘導体、ポリプロピレングリコール誘導体、ポリブタジエン誘導体、コロジオン、ナイロン、ポリウレア、シリカゲル、シリコン誘導体、フェニルシロキサン、フィブリン、硝酸セルロース、炭化水素、リン脂質、リン酸カルシウムゲル、フェノキシアセチル化物、グルコマンナン等。

【００２２】また、光架橋性ポリビニルアルコールは従来の光架橋性樹脂と比較して生物に対する親和性がよいといわれており、酵素、微生物等の固定化剤の用途がこれによりさらに向上すると考えられている。しかし、この場合に水によって光架橋性ポリビニルアルコールが膨潤し架橋構造が破壊されてしまうという問題があった。しかるにバクテリアセルロースを加えることによってこの膨潤を阻止することができる。

【００２３】固定化担体の製造方法について述べると、該バクテリアセルロースが微生物によって産生されたままのゲル状である場合、このゲル状のものを乾燥させることによって得られる乾燥物である場合、あるいはゲル状のものを離解後乾燥させることによって得られる乾燥物の内繊維状の形態を保っていないものである場合には、担体素材を適当な溶媒で溶液としあるいは溶融状態とすることによって流動性を持たせてから、該バクテリアセルロースに含浸し、これをゲル化させれば固定化担体が得られる。ゲル化の方法は、担体素材によって千差万別であるが、例えば、アルギン酸ナトリウムの場合は混合後塩化カルシウム溶液に入れればよいし、寒天の場合は温度を下げればよい。

【００２４】該バクテリアセルロースが離解された状態、あるいはこれを凍結乾燥や臨界点乾燥等の方法によって得られる繊維状の形態を残したままの乾燥状態の場合には、これら該バクテリアセルロースと担体素材とを、前記のような含浸とはことなり、通常の方法で混合を行なってからゲル化、重合又は成形することにより固定化担体が得られる。

【００２５】固定化担体中の該バクテリアセルロースの濃度は０．０１％～９９％、好ましくは０．１～２％程度がよい。

【００２６】以上のような方法で得られた固定化担体の形状は、反応の種類や方法に従って自由に選択可能である。例えば、カラムにつめたり、撹拌槽に入れたりする場合はじゅず玉状に加工すればよいし、必要に応じて棒状や膜状にしてもよい。離解した該バクテリアセルロースを担体素材と混合させてからゲル化、重合又は成形させることにより固定化担体を製造する場合には、従来と同様の方法で固定化担体を加工成形すればよい。

【００２７】一方、微生物によって産生されたままのゲル状から直接固定化担体を製造する場合には、担体素材をゲル状該バクテリアセルロースに含浸させてからゲル化させればよい。所定の形に加工するには、ゲル状バクテリアセルロースを必要な形状に加工してから担体素材を含浸させても良いし、一方、固定化担体を製造してから必要な形状に加工しても良い。

【００２８】本発明の固定化担体に固定化される活性成分は酵素、微生物、生体由来物質、触媒、その他の反応性物質であり、一般に用いられるものであればよい。活性成分の酵素例としては、アスパルターゼ、Ｌ－アスパルテートβ－デカルボキシラーゼ、Ｌ－ロイシンデヒドロゲナーゼ、ヒダントイナーゼ、ＤＬ－２－アミノ－Δ^{2}－チアゾリン－４－カルボン酸水解酵素、ジヒドロピリミジナーゼ、アシルアミノ酸に作用するアシラーゼ、トリプトファナーゼ、トリプトファンシンセターゼ、チロシナーゼ、フマラーゼ、ヒスチジンアンモニアリアーゼ、Ｌ－アミノ酸オキシダーゼ、α－アミラーゼ、β－アミラーゼ、インベルターゼ、グルコースイソメラーゼ、ペニシリンアシラーゼ、セファロスポリンアシラーゼ、５’－ＡＭＰデアミナーゼ、アルギニンデイミナーゼ、アルドラーゼ、システインデスルフヒドラーゼ、メチオニナーゼ、ホスホジエステラーゼ、キモトリプシン、トリプシン、パパイン、ナリンギナーゼ、ラクターゼ、グルコアミラーゼ、ロイシンアミノペプチダーゼ、ペプシン、アミノラクタムヒドロラーゼ、アミノラクタムラセマーゼ、グルタミン酸デヒドロゲナーゼ、アスパラギン酸デカルボキシラーゼ、プルラナーゼ、ヒアルロニダーゼ、１，４－α－グルカンホスホリラーゼ、シクロデキストリングリコシルトランスフェラーゼ、デキストランシュクラーゼ、α－グルコシダーゼ、β－グルコシダーゼ、ヘキソキナーゼ、Δ^{1}－脱水素酵素、１１β－水酸化酵素、２０β－脱水素酵素、３β－脱水素酵素、Δ^{1}－水酸化酵素、ステロイドのエステラーゼ、５’ホスホジエステラーゼ、ＡＴＰデアミナーゼ、酢酸

BNSDOCID: <JP_____406035155A_I_>

キナーゼ、アデニル酸キナーゼ、アデノシンキナーゼ、カルバミルホスホキナーゼ、ピルビン酸キナーゼ、解糖系酵素キモシン、アルカリプロテアーゼ、レンニン、プロナーゼ、プロテアーゼ、カタラーゼ、リゾチーム、Ｄ－オキシニトラーゼ、アルコールデヒドロゲナーゼ、グルコース－６－リン酸デヒドロゲナーゼ、硝酸レダクターゼ、亜硝酸レダクターゼ、ロダネーズ、グルタミナーゼ、ウリカーゼ、ペルオキシダーゼ、リパーゼ、コレステロールオキシダーゼ、ペニシリナーゼ、アルカリホスファターゼ、酸性ホスファターゼ、アセチルコリンエステラーゼ、等が挙げられる。活性成分の微生物例としては、ブレビバクテリウム・アンモニアゲネス、エシェリヒア・コリ、エルビヘルビコーラ、ストレプトコッカス・フェカーリス、シュードモナス・プチダ、セラチア・マセランス、バチルス・ズブチルス、アセトバクター・アセチ、ラクトバチルス・デルブレッチィ、シュードモナス・フルオレッセンス、ミクロコッカス・ルテウス、バチルス・メガテリウム、ペニシリウム・クロリゲナム、カンジダ・トロピカリス、サッカロマイセス・セルビシエ等が挙げられる。そのほか、必要に応じて動物細胞、植物細胞等を固定化してもよい。

【００２９】このようにして得られた固定化物は微生物や酵素を用いた医薬、食品等の有用物質の生産に利用できる。又、分析及び工業生産工程におけるバイオリアクターとしても利用できる。

【００３０】又、触媒及びその他の反応性物質は該バクテリアセルロースと共存できかつ通常の化学反応等に用いられる有機及び無機物質であればよい。これらのものはカラムに充填し、反応床として使用することもできるし、各種クロマトグラフィにも利用できる。一方、粒径、サイズを選択することにより、物理的に目的物質を分離選択又は精製することに固定化担体を用いることもできる。

【００３１】

【実施例】

実施例１

シュクロース５ｇ／ｄｌ、酵母エキス(Ｄｉｆｃｏ)０．５ｇ／ｄｌ、硫安０．５ｇ／ｄｌ、KH_2PO_4 ０．３ｇ／ｄｌ、$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ０．０５ｇ／ｄｌ(ｐＨ５．０)の組成の培地５０ｍｌを２００ｍｌ容三角フラスコに張込み、１２０℃で２０分間蒸気殺菌した。これに酵母エキス０．５ｇ／ｄｌ、ペプトン０．３ｇ／ｄｌ、マンニトール２．５ｇ／ｄｌ（ｐＨ６．０）の組成の試験管斜面寒天培地で生育させた(３０℃、３日間)アセトバクター、アセチ、サブスピーシス、キシリナムＡＴＣＣ　１０８２１を１白金耳づつ接種し３０℃で培養した。３０日後、培養液の上層に白色のバクテリアセルロース性多糖を含むゲル状の膜が形成された。

【００３２】こうして得られたゲル状のバクテリアセルロースを標準パルプ離解機で離解した後１２５ｍｅｓｈのふるいで濾過して固型分含量約８．８％のペースト状の離解物を得た。これを以下の実験に使用した。

【００３３】フマル酸２ｇ／ｄｌ、リン酸二水素カリウム０．２ｇ／ｄｌ、硫酸マンガン４水塩１ｍｇ／ｄｌ、硫酸マグネシウム７水塩１ｍｇ／ｄｌ、塩化カルシウム０．０５ｇ／ｄｌ、酵母エキス(Ｄｉｆｃｏ)１．０ｇ／ｄｌ、ペプトン(Ｄｉｆｃｏ)１．０ｇ／ｄｌの組成の液体培地をアンモニアを用いてｐＨ７．０に調整した。この培地を５００ｃｃの坂口フラスコに５０ｍｌずつ分注し、Ｅ．ｃｏｌｉ ＡＴＣＣ　１１７７５を一白金耳ずつ接種して３０℃で２４時間培養した。菌体を常法に従い遠心分離により回収した。さらに生理食塩水を用いて２回洗浄後、湿重量と同量の生理食塩水に懸濁した。

【００３４】この菌体を以下の方法によりゼラチン＋本セルロースで作った担体に固定化を試みた。固定化法としては、特開昭５９－６６８８６号公報に記載されているトランスグルタミナーゼによる固定化法を用いた。ゼラチン（宮城化学）、該バクテリアセルロースを離解した物を下記の表に示した組成にて混合した。この混合液にさらに菌体を濃度３．５％となるように混合してから、特開昭５９－６６８８６号公報に記載されている方法に従い、トランスグルタミナーゼをゼラチン１ｍｇに対して０．１ユニット加え２５℃に１時間放置してゲル化させた。このゲルを５ｍｍ角のサイの目状に切断して反応液に添加してアスパルターゼの活性を調べた。反応液は、フマル酸２０ｇ／ｄｌ、１ｍＭ・$MgSO_4 \cdot 7H_2O$を含有する溶液をアンモニアを用いてｐＨ８．５に調整して用いた。反応液全量に対して菌体濃度が０．５％となるように菌体固定化ゼラチンゲルを反応液に入れた。反応は１時間行ない、５分おきにアスパラギン酸濃度をニンヒドリンによる比色で定量して反応初速度を求めた。反応液中への漏出菌数は、反応開始後３０分間経過した後にコロニーカウントにより求めた。結果を次表に示す。

【００３５】

【表１】

ゼラチン濃度 (%)	補強材及添加濃度 (%)	漏出菌数 (cells/ml)
12.5	0	1.2×10^{8}
12.0	バクテリアセルロース 0.5	1.1×10^{7}
12.5	バクテリアセルロース 0.5	9.8×10^{6}
12.0	ポリエステル紗 0.5	1.4×10^{8}
12.5	ポリエステル紗 0.5	1.1×10^{8}

【００３６】酵素活性は、反応初速度より求めた。なお、酵素活性は、バクテリアセルロースを添加しない場合の１回目を１００とし相対値で表わした。又、反応は、１０回くりかえした。結果を次に示す。

＊【００３７】
【表２】

＊

ゼラチン濃度 (%)	補強材及添加濃度 (%)	アスパルターゼ相対活性 1回目	10回目
12.5	0	100	35
12.0	バクテリアセルロース 0.5	99	80
12.5	バクテリアセルロース 0.5	102	85
12.0	ポリエステル紗 0.5	103	37
12.5	ポリエステル紗 0.5	97	38

【００３８】バクテリアセルロースを添加することにより菌体の漏出が防止された為、繰り返し使用後の活性の維持が可能となった。

【００３９】また、前記の表に示したものと同様のゼラチン及び補強材を添加したゼラチンの破壊強度を測定した。測定は、前述のゼラチン溶液を直径２２ｃｍの円筒形のプラスチック容器の中でゲル化させた後に、レオメーター（不動工業社，ＮＲＭ２００２Ｊ）にセットし５ｍｍφのアダプターを直接ゲルに侵入させたときの最大荷重を破壊強度として表わすことにより行なった。結果を次表に示す。

【００４０】
【表３】

ゼラチン濃度 (%)	補強材及添加濃度 (%)	破壊強度 (g)
12.5	0	90
12.5	バクテリアセルロース 0.5	145
12.5	バクテリアセルロース 0.5	194
12.0	ポリエステル紗 0.5	111
12.5	ポリエステル紗 0.5	128

【００４１】バクテリアセルロースは、従来の補強材よりも優れた補強効果が認められた。

【００４２】実施例２

アルギン酸ゲルへの固定化は、アルギン酸ナトリウムとバクテリアセルロースを下記の表に従い混合した。次に常法に従い、０．１Ｍ $CaCl_2$ 溶液に滴下してじゅず玉状のゲルを得た。

【００４３】反応条件等については実施例１５の通りとして、アスパルターゼの反応を行なった。漏出菌数については、反応液を取り変えずに３０分たったところでコロニー数により求めた。結果を次表に示す。

【００４４】
【表４】

BNSDOCID: <JP_____408035155A_I_>

アルギン酸濃度 (%)	補強材及添加濃度 (%)	30分後漏出菌数 (cells／ml)
1.5	0	2.1×10^{8}
1.0	バクテリアセルロース 0.5	5.3×10^{6}
1.5	バクテリアセルロース 0.5	1.5×10^{5}
1.0	ポリエステル紗 0.5	1.9×10^{8}
1.5	ポリエステル紗 0.5	2.0×10^{8}

【００４５】上記の反応液を１５分ごとにとりかえて合計４回の固定化担体のくりかえし反応を行なった。酵素活性は、３分おきにアスパラギン酸の濃度を測定して初速度から求めた。結果を次表に示す。アスパルターゼ活性は該セルロース性物質を添加しない場合の１回目を１＊００とした時の相対値で示した。

【００４６】

【表５】

アスパラギン酸濃度 (%)	補強材及添加濃度 (%)	アスパルターゼ相対活性 1回目	2回目	3回目	4回目
1.5	0	100	85	32	20
1.0	バクテリアセルロース 0.5	101	92	79	60
1.5	バクテリアセルロース 0.5	97	90	87	85
1.0	ポリエステル紗 0.5	101	80	29	19
1.5	ポリエステル紗 0.5	98	89	39	25

【００４７】バクテリアセルロースを補強材として添加した結果、菌体の漏出が防止されたために従来の固定化担体よりも本発明の高強度固定化担体の方がくり返し使用することが可能となった。

【００４８】実施例３

光架橋性樹脂に以下に述べる方法でインベルターゼを固定化した。インベルターゼ１部とリン酸緩衝液（ｐＨ６．０）２部を混合したものに光架橋性樹脂としてポリビニルアルコール（ＰＶＡ）－ＳｂＱ(ＧＨ－１７　ＳｂＱ１０．５ｗｔ％１．２ｍｏｌ％，東洋合成工業(株))（ｐＨ６．０）２０部を混合した。この混合液をガラス※※板上に流延してから１日間風乾後光照射を１時間行ない架橋硬化させた。補強材は、最終濃度が５％となるように添加した。

【００４９】この固定化膜を５×５ｍｍの大きさに細断し、ショ糖４ｇの溶液５０ｍｌ中で、４０℃２４ｈｒ撹拌反応してショ糖の分解率をしらべた。反応は１０回くりかえした。また破断応力，弾性率についても調べた。結果を次表に示す。

【００５０】

【表６】

補強材及添加濃度 (%)	破断応力 (ＮＰａ)	弾性率 (ＧＰａ)	インベルターゼ相対活性 1回目	10回目
0	25.1	0.95	100	98
バクテリアセルロース 5	32.0	1.53	100	99
ポリエステル紗 5	28.3	1.20	100	98

【００５１】バクテリアセルロースの添加によって固定化酵素膜の強度である膜の破断応力，弾性率等の膜の物理特性が大きく改善された。このため酵素の固定化のための操作が容易となり該セルロース性物質を添加しない場合に比べて添加した場合は、操作に要する時間は３／４に短縮された。

【００５２】

【発明の効果】本発明の補強材は物理的な応力による破壊や変形に対して優れている上に溶液等によって引きおこされる膨潤による破壊や変形にも強い。したがって、固定化担体に補強材として配合した場合に激しい撹拌や、非常に長いカラムへの充填が可能となるばかりか、従来強度的に弱すぎて使用不可能であるような担体も固定化担体として新たに使用可能となる。この固定化担体を製造する際には、従来の固定化担体の製造過程において度々生じた活性成分の凝集がなく従って、固定化担体内に活性成分を均一に分散させることが出来る。

【図面の簡単な説明】

【図１】　アセトバクターアセティーサブスピーシスキシリナムの生産するセルロース性物質の電子顕微鏡写真である。

【手続補正２】

BNSDOCID: <JP_____408035155A_I_>

【補正対象書類名】図面
【補正対象項目名】全図

【補正方法】変更
【補正内容】

【図１】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.[6]	識別記号	庁内整理番号	ＦＩ	技術表示箇所
Ｈ０１Ｂ　3/48				

(72)発明者　三橋　重信
茨城県新治郡桜村吾妻２丁目709棟
(72)発明者　市村　国宏
茨城県筑波郡谷田部町松代５丁目630棟
(72)発明者　山中　茂
神奈川県横浜市南区大岡３－40－13
(72)発明者　渡部　乙比古
神奈川県川崎市川崎区観音２－20－８
(72)発明者　西　美緒
東京都品川区北品川６丁目７番35号　ソニー株式会社内
(72)発明者　瓜生　勝
東京都品川区北品川６丁目７番35号　ソニー株式会社内

BNSDOCID: <JP_____408035155A__I_>